



北海道公立大学法人  
**札幌医科大学**  
Sapporo Medical University

*SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY*

Title 論文題目	Prognostic Value of HLA Class I Expression in Patients with Colorectal Cancer. (大腸癌における HLA Class I 発現の予後評価)
Author(s) 著 者	岩山, 祐司
Degree number 学位記番号	乙第 2845 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2015-03-30
Original Article 原著論文	
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

# 学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	乙第 2845 号	氏 名	岩 山 祐 司
<p><b>論文題名</b></p> <p>Prognostic Value of HLA Class I Expression in Patients with Colorectal Cancer</p> <p>大腸癌における HLA Class I 発現の予後評価</p> <p><b>研究目的</b></p> <p>がん治療において予後予測因子は、治療方法の選択や根治手術後の follow up 方法の決定において非常に有用な指標である。病理組織学的因子や臨床学的因子など、さまざまな予後予測因子が報告されているが、未だ確立された因子はない。現状では、さまざま予後予測因子を用いて総合的に判断しているのが実情である。今回の研究においては、世界的に有病率および死亡率の高い大腸癌を対象に予後予測因子について検討した。大腸癌では、組織型、深達度、リンパ節転移個数、遠隔転移の有無、脈管侵襲などの病理学的因子、術前腸閉塞、腸管穿孔などの有無が臨床的予後因子として報告されている。</p> <p>がん再発において重要な因子に宿主の免疫能が深く関与していることは事実である。しかし、がん免疫学的視点から予後予測因子の報告は少ない。根治手術施行後も再発を生じうる機序のひとつとしては、術後も血液中あるいはリンパに微小転移として残存したがん細胞による癌免疫監視機構からのエスケープ機序の関与が報告されている。今回の研究では、このエスケープ機序のひとつに深く関わっている HLA Class I に着目し、その影響を併せて検討した。</p> <p><b>研究方法</b></p> <p><b>【対象症例】</b></p> <p>1994 年から 2005 年までに本学消化器・総合、乳腺・内分泌外科学講座で治癒切除が行われた Stage II 大腸癌 97 症例を対象（男性 60 例、女性 37 例、31～83 歳）とした。病理組織学的所見にて低分化型腺癌、あるいは脈管侵襲陽性の 56 症例については術後補助化学療法が施行されている。化学療法は、無作為比較臨床試験として以下の 2 群に分類された。①5-FU 320mg/m<sup>2</sup>, day 1-21 + CDDP 3.5mg/m<sup>2</sup> day 1-21→その後、5-FU 200mg/body/day を 2 年間内服、②5-FU 200mg/body/day を 2 年間内服した。放射線治療を受けた患者やデータベースの不十分な患者は検討対象から除外した。観察中央期間は 54 か月であった。</p> <p><b>【HLA Class I の発現レベル評価方法】</b></p> <p>癌原発巣における HLA Class I の発現レベルは、単クローン抗体 EMR 8-5 による免疫染色標本にて評価した。本学病理学第一講座にて樹立した EMR8-5 は、ホルマリン固定</p>			

された組織にて HLA Class I A, B, C 重鎖すべてを検出可能である。従来の抗 HLA Class I 抗体では凍結保存組織でしか検索できなかったが、この抗体によって通常の手術摘出ホルマリン固定標本を材料に HLA Class I の検索が可能となった。

EMR8-5 抗体による免疫染色によって heterogeneous に癌細胞膜上の HLA Class I が染色されるが、この染色程度によって症例を以下のごとく 3 群に分類した。癌細胞膜が染色される陽性細胞の割合が 80%以上を”Positive”、20～80%陽性となるものを”Dull”、20%未満を”Negative”とした。本研究では、Positive 群と Dull および Negative 群の 2 群での各種因子との相関を検討した。

#### 【統計学的検討】

HLA Class I 発現程度と癌進行度、患者年齢、性別、腫瘍径、腫瘍部位、組織型、尿管侵襲との相関を Pearson  $\chi^2$  test にて検討した。また、無再発期間(disease-free survival: DFS)との相関も検討した (Kaplan-Meier method)。再発率と臨床病理学的因子との相関関係を検討するため、Cox 回帰比例ハザード分析にて単変量解析および多変量解析が行われた。P<0.05 を有意差ありと判定した。

### 研究結果

#### 【Stage II 大腸癌における HLA Class I の発現結果】

大腸癌原発巣における HLA Class I が Positive、Dull、Negative となったのは、それぞれ 51 例 (53%)、40 例 (41%)、6 例 (6%) であった。今回の検討対象として、Negative 群が少数例であったため、上述の 3 群を Positive (n=51) と Dull および Negative (n=46) の 2 群に分けて行った。これらの群において性別以外の臨床病理学的背景に有意差は認めなかった。

#### 【Stage II 大腸癌の再発予後予測因子の検討】

再発に関して、年齢、性別、腫瘍の局在、腫瘍径、深達度、分化型、リンパ管侵襲、静脈侵襲、budding、郭清リンパ節個数、HLA Class I 発現程度、術後補助化学療法の有無、術前腸閉塞の有無の項目を Cox 回帰比例ハザード分析にて単変量解析を行った。

結腸 vs 直腸でハザード比 4.23 (95%CI 1.49-12.01, P=0.01)、HLA Class I 発現程度で Positive 群に比較し Dull & Negative 群がハザード比 3.86 (95%CI 1.26-11.85, P=0.02) と有意差を認めた。また、静脈侵襲にてハザード比 3.10 (95%CI 1.00-9.56, P=0.05)と有意差はないものの再発危険度が高い傾向を認めた。更に、多変量解析を行ったところ、腫瘍の局在、HLA Class I の発現程度、静脈侵襲の有無がそれぞれ再発予後独立因子となった。

つまり、本研究においては、直腸癌、静脈侵襲、HLA Class I が予後予測因子であるということが統計学的手法で明らかになった。

#### 【HLA Class I 発現と無再発生存率の検討】

多変量解析にて再発予後予測因子となりうることが判明した HLA Class I 発現について、生存分析を Kaplan-Meier 法にて検討した。Positive 群と Dull & Negative 群の 5 年

無再発生存率は、それぞれ 89%、70%であり、有意差をもって Positive 群は予後良好であった ( $P=0.01$ )。

一方、全生存率については、Positive 群で予後良好の傾向がえられたが、有意差はなかった ( $P=0.29$ )。

#### 【HLA Class I 発現と術後補助化学療法】

低分化型腺癌あるいは脈管侵襲陽性である高悪性度群 (56 人) には術後補助化学療法が施行された。化学療法を施行された高悪性度群と、化学療法未施行の低悪性度群に分類し、HLA Class I 発現と無再発生存率を比較した。高悪性度群においては、Positive 群と Dull & Negative 群の 5 年無再発生存率は、それぞれ 84%、68%であった。有意差はなかったものの悪性度群において Positive 群は予後良好な傾向を認めた ( $P=0.10$ )。一方、化学療法未施行の低悪性度群においては、Dull & Negative 群で 29%が再発したが、Positive 群では 1 例も再発を認めなかった (無再発生存率: 100%)。低悪性度群では有意差をもって、Positive 群が予後良好であった ( $P=0.03$ )。

#### 【考察】

予後予測因子は、治療方針の決定や根治手術後の follow-up スケジュール決定に有用である。現在、さまざまな予後予測因子が報告されているが、免疫学的予後予測因子の報告は少ない。組織型、リンパ節転移など癌自体の性質が予後を大きく規定するが、同時に宿主である生体側の免疫状態も予後に大きく関わっている。

癌免疫において、細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) に癌抗原を提示する HLA Class I は重要な役割を担っている。一般的に CTL は癌抗原などの異物を認識・攻撃することにより生体の恒常性維持を保とうとするが、実際には HLA Class I の発現抑制、抑制性サイトカインの産生、抑制性 T 細胞の浸潤などの機序により癌は生体の免疫機構を逃避する。根治手術後においても癌再発を来しうる機序のひとつが、微小転移による癌免疫逃避機序と考えられる。今回の研究においては、癌再発に深く関わっている HLA Class I 分子に着目し、この分子が免疫学的癌予後予測因子になりうるか検討した。

年齢、性別、腫瘍部位、腫瘍径、深達度、組織型、リンパ管侵襲、脈管侵襲、Budding、郭清リンパ節数とともに HLA Class I 発現程度を単変量解析および多変量解析したところ、HLA Class I 発現が独立した予後予測因子であった。さらに、HLA Class I 発現程度と 5 年無再発生存率を比較すると、有意差をもって HLA Class I 高発現群では予後良好な結果となった。以上より、HLA Class I は stage II 大腸癌において有益な予後予測因子となりうると考えられた。一方、全生存率においても HLA Class I 高発現群で予後良好な傾向にあったが有意差は認めなかった ( $P=0.29$ )。この理由は、大腸癌においては化学療法、放射線療法、手術などの再発後治療が良好な予後延長効果を発揮することより、癌発症時の生体の免疫状況は根治手術後の再発因子とはなりうるものの、全生存率を規定するには影響が弱いと考えられた。

本学病理学第一講座にて樹立した抗 HLA Class I 抗体を用いた諸研究においても、骨肉腫、腎癌、膀胱癌で HLA Class I が予後予測因子になりうることを報告している。塚原らは骨肉腫における HLA Class I 高発現群では低発現群に比較し全生存率、無再発生存率の両方において有意差をもって良好であったことを報告した。つまり、HLA Class I の予後予測因子としての影響度には、臓器特異性があると考えられた。我々の研究を含め多くの論文では HLA Class I の発現低下は予後不良因子であるという報告であるが、Madjd Z

らは、乳癌において HLA Class I の全消失は予後良好因子であると報告している。彼らは、この機序として、HLA Class I の消失により NK 活性が高まり、その結果として予後が向上すると考察した。一般に NK 細胞の細胞障害機構の成立においては、NK target structure (NKTS) と HLA Class I を代表とする NK negative target structure (NKNTS) が重要な役割を担っているといわれ、NKTS の発現量が多いほど、または NKNTS の発現量が少ないほど、NK 感受性は強くなる。つまり、NK 感受性は標的細胞の NKTS と NKNTS 発現の量的、質的バランスで決定される。以上、さまざまな報告があるが、いずれにしても、生体内の他の免疫担当細胞との相互環境によって予後の良し悪しに変化はあるものの、HLA Class I 発現量が予後規定因子になりうることが強く示唆される。

Stage II 大腸癌は比較的予後良好であるので、術後補助化学療法がもたらす恩恵は少ないとの報告もある。しかしながら、本邦では stage II 大腸癌の約 13% に再発を認める。第 7 版 AJCC (American Joint Committee on Cancer) においては、Stage II を Stage IIA, Stage IIB, Stage IIC に細分化したところ、Stage III より予後不良群の存在が報告された。それゆえ、Stage II 症例を高悪性群と低悪性群に分類している。以上より、Stage II 症例に対しては、高悪性群を厳選し、そのような症例のみに術後補助化学療法を施行することが理想的である。高悪性度のリスク因子としては、NCCN ガイドライン Ver.2.2014 では、郭清リンパ節個数 12 個未満、低分化型腺癌、リンパ管侵襲、脈管侵襲、腸閉塞、傍神経浸潤、腸穿孔、切除断端距離、ESMO ガイドラインでは、郭清リンパ節数 12 個未満、低分化型腺癌、脈管侵襲、リンパ管侵襲、傍神経浸潤、T4、腸閉塞、腸穿孔、と、規定している。本研究では、低分化腺癌あるいは中等度以上の脈管侵襲陽性を高悪性度 Stage II の選択基準とし、それらの症例に術後補助化学療法が施行された。術後補助化学療法施行群と非施行群、つまりは高悪性度群と低悪性度群に分類し、それぞれの 5 年無再発生存率を比較したところ、両群において HLA Class I Positive 群が Dull & Negative 群より予後良好であった。さらに、低悪性度群では、Positive 群では再発は 1 例も認めなかったが、Dull & Negative 群では 29% に再発を認めた。以上のことから、HLA Class I は Stage II 大腸癌の予後予測因子となりうることが強く示唆された。

## 結論

HLA Class I 発現レベルは Stage II 大腸癌において非常に鋭敏な予後予測因子となりうると考えられた。

## 論文審査の要旨及び担当者

(平成 27 年 3 月 30 日授与)

報告番号	乙第 2845 号	氏 名	岩 山 祐 司
論文審査 担 当 者	主査 教授 平田 公一		副査 教授 佐藤 昇志
	委員 准教授 鳥越 俊彦		委員 教授 一宮 慎吾

論文題名	Prognostic Value of HLA Class I Expression in Patients with Colorectal Cancer
結果の要旨	
<p>罹患率、死亡率の高い大腸癌にたいして、根治手術後の鋭敏な再発予後予測因子の開発が望まれている。がん再発において免疫学的観点からみると、HLA class I の発現低下は癌免疫監視機構からのエスケープに深く関わっている。本研究は、以上の背景より StageII 大腸癌にたいしてその影響を検討した。</p> <p>当講座で根治手術を終えた StageII 97 症例の手術検体にて、HLA class I が発現低下していること、結腸癌に対し直腸癌であること、静脈侵襲があることが、再発予後予測因子となることが多変量解析で明らかになった。また、HLA class I 発現程度と無再発生存率の検討においても、発現低下群は有意差をもって予後不良であった。</p> <p>以上より、術後補助化学療法を行うか否かに苦慮する StageII 大腸癌にたいして、HLA class I 発現低下は、予後予測因子となるとともに、化学療法を適応する一つの判定材料となりうると考えられた。</p> <p>これらの結果は、注目すべき新知見で、博士(医学)に値する研究として十分との審査結果であった。</p>	